

STUDI DOCKING MOLEKULAR SENYAWA ASAM SINAMAT DAN DERIVATNYA SEBAGAI INHIBITOR PROTEIN 1J4X PADA SEL KANKER SERVIKS

MOLECULAR DOCKING STUDY OF CINNAMATE ACID COMPOUND AND ITS DERIVATIVES AS PROTEIN 1J4X INHIBITOR TO CERVICAL CANCER CELL

Susmi Ferwadi*, Rahmat Gunawan dan Winni Astuti

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Mulawarman, Samarinda

Jalan Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda, Kalimantan Timur

*Corresponding Author: susmiferwadi@yahoo.co.id

Submit : 01 Maret 2017 Accepted : 02 Mei 2017

ABSTRACT

Molecular docking of cinnamate acid compound and its derivatives as protein 1J4X inhibitor to cervical cancer cell has been done. The result showed that the docking energies on mode 1 of inhibitor molecules are -5.7 kcal/mol for cinnamate acid, -6.0 kcal/mol for phenyl cinnamate, -4.7 kcal/mol for methyl cinnamate and -7.5 kcal/mol for 4-phenylchroman-2-on. The inhibitor molecules were interacted with the amino acids of the cervical cancer cell by forming hydrogen bondings. Cinnamate acid formed hydrogen bondings with amino acids of serine 124, glycine 127, tyrosine 128, serine 129 and arginine 130. Phenyl cinnamate formed hydrogen bonding with amino acid of serine 129. Methyl cinnamate formed hydrogen bonding with amino acid of serine 129. 4-phenylchroman-2-on formed hydrogen bondings with amino acids of serine 124, serine 129 and arginine 130. Cinnamate acid is more potential as anticancer drug than phenyl cinnamate, methyl cinnamate and 4-phenylchroman-2-on.

Keywords: Cinnamate acid, molecular docking, protein 1J4X.

PENDAHULUAN

Human Papiloma Virus (HPV) yang merupakan virus paling umum menginfeksi saluran reproduksi dikaitkan pada hampir semua kasus kanker serviks (99%). Sejumlah bukti menunjukkan bahwa penyebab tahap awal terbentuknya sel kanker serviks disebabkan oleh *Human Papilloma Virus* (HPV) [1].

Penyebab tersering terjadinya kanker serviks oleh dua tipe virus HPV (16 dan 18) yaitu sebesar 70 %. Kanker serviks merupakan kanker terbanyak kedua dan ditemukan 445.000 kasus baru di dunia pada tahun 2012. Di Indonesia penyakit kanker serviks merupakan penyakit kanker dengan prevalensi tertinggi pada tahun 2013 [2].

Sebagai pengobatan kanker, asam sinamat yang merupakan turunan dari metil sinamat dan analog alaminya telah diketahui. Senyawa fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on telah dapat disintesis dari asam sinamat dan fenol menggunakan katalis asam. Telah dilakukan pengujian antikanker pada senyawa turunan asam sinamat, baik natural ataupun sintesis [3].

Dalam memprediksikan orientasi ikatan kandidat obat terhadap target proteinnya sering digunakan *docking* yang dapat memprediksikan

afinitas dan aktivitas. Sehingga secara rasional *docking* memegang peran penting dalam desain obat [4]. Protein 1J4X sebagai protein sel kanker serviks dimana merupakan reseptor protein VHR (*Vaccinia H-1 related phosphatase*) yang pengahambatannya dapat menurunkan proliferasi dari sel kanker serviks [5].

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan protein 1J4X sebagai protein kanker serviks dari manusia untuk mengetahui senyawa apakah dari asam sinamat dan derivatnya yang lebih berpotensi sebagai inhibitor sel kanker serviks dengan menggunakan metode *docking* molekular, sehingga dapat diketahui senyawa poten sebagai kandidat obat antikanker.

METODOLOGI PENELITIAN

Piranti Keras

Seperangkat komputer Processor Intel Core i3, memory (RAM) 4 GB dengan sistem operasi Linux Ubuntu 12.04 lts.

Piranti Lunak

Autodock Tools 4.2, Autodock Vina, NWChem, Jmol, *Visual Molecular Dynamics* (VMD), Chemcraft, Open Babel, Ligplot,

PymoldanStruktur protein 1J4X sebagai protein kanker serviks.

Metode Komputasi

Preparasi Protein

Dalam penelitian digunakan protein 1J4X.pdb sebagai senyawa protein kanker serviks yang diunduh dari situs protein data bank <http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=1J4X>. Protein dipisahkan dengan molekul air dengan menggunakan *Visual Molecular Dynamics* (VMD) yang kemudian disimpan dengan format .pdb. Kemudian dengan menggunakan Autodock Tools 4.2 ditampilkan atom hidrogen dari protein dan disimpan dalam format .pdbqt.



Gambar 1. Protein VHR (*Vaccinia H-1 related phosphatase*)

Preparasi Ligan

Penelitian ini menggunakan preparasi ligan dimana masing-masing ligan dirancang dengan menggunakan z-matrix yang divisualisasikan dengan Jmol. Ligan yang digunakan yaitu asam sinamat, metil sinamat, fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on. Dilakukan optimasi geometri dan perhitungan frekuensi pada ligan dengan NWChem. Selanjutnya, format file ligan diubah dari.out menjadi .xyz dengan chemcraft. Kemudian format file ligan diubah dari .xyz menjadi .pdb dengan Open Babel. Kemudian dilakukan perubahan format file dari .pdb menjadi .pdbqt dengan program Autodock Tools 4.2.

Optimasi Geometri dan Minimisasi Energi

Reseptor Protein VHR (*Vaccinia H-1 related phosphatase*)

Reseptor 1J4X pada penelitian ini ditampilkan atom hidrogennya menggunakan

Autodock Tools 4.2, kemudian disimpan dalam format file .pdbqt.

Senyawa Uji

Senyawa uji asam sinamat, fenil sinamat, metil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on pada penelitian ini dilakukan optimasi geometri dan minimisasi energi dengan menggunakan NWChem dan Jmol sebagai program visualisasi preparasi dalam input data.

Docking Senyawa Uji Terhadap Reseptor

Pada uji *docking* ini dilakukan penambatan senyawa uji terhadap reseptor protein sel kanker dengan melihat besarnya nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Dimana nilai RMSD < 2.00 Å yang umumnya digunakan sebagai nilai standar penambatan molekul.

Visualisasi Data

Data yang diperoleh dari download untuk preparasi protein, hasil optimasi geometri, minimisasi energi dan penambatan molekul ditampilkan dengan program berbasis visualisasi yaitu *Visual Molecular Dynamics* (VMD), Jmol, Ligplot dan Pymol.

Analisis Data

Data yang diperoleh dari *Docking* senyawa uji terhadap reseptor protein, dilakukan perbandingan antara energi *Docking*, *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan interaksi yang terjadi antara ligan dengan protein. Jika hasil energi *docking* salah satu senyawa uji lebih rendah daripada energi *docking* senyawa uji lainnya, maka senyawa uji tersebut memiliki kemampuan sebagai inhibitor dalam menghambat pertumbuhan sel kanker sehingga dapat dijadikan sebagai alternatif obat antikanker.

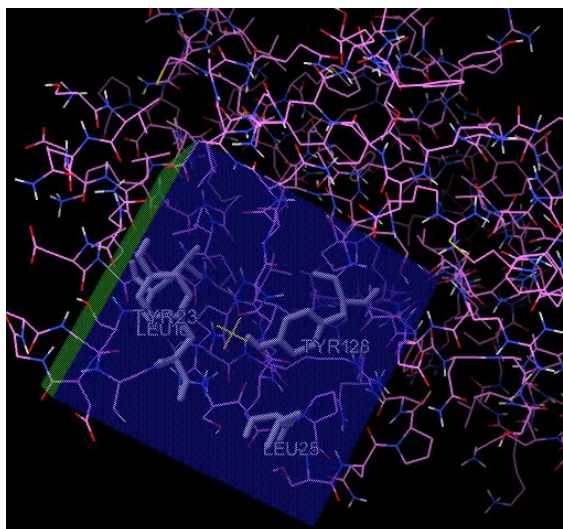
HASIL DAN PEMBAHASAN

Preparasi Protein

Dengan menggunakan program Autodock Tools 4.2 dilakukan penentuan *grid box* pada daerah yang diketahui sebagai sisi aktif dari protein. Penentuan *grid box* ini meliputi pengaturan letak parameter *box* dan penentuan besarnya *grid box* menggunakan *spacing* (angstrom).

Pada protein 1J4X.pdb ini di peroleh hasil pengaturan *grid box* sebagai berikut ; *center_x* = 11.102, *center_y* = 7.177 dan *center_z* = 6.142

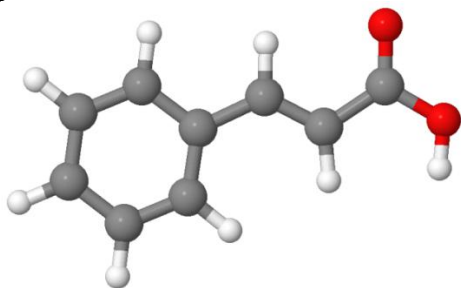
dengan penentuan spacing (angstrom) sebesar 0.375 Å.



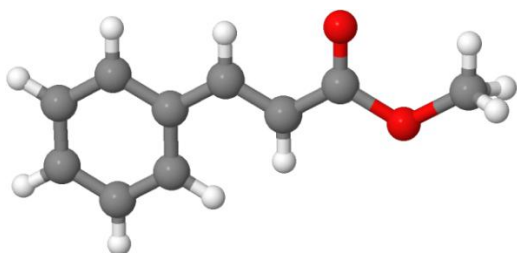
Gambar 2. Preparasi protein menggunakan Autodock Tools 4.2

Preparasi Ligan

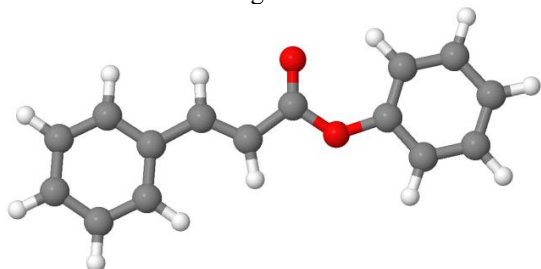
Optimisasi dan perhitungan frekuensi untuk meminimalkan energi ikatan menggunakan aplikasi NWChem sehingga diperoleh struktur paling stabil, dari hasil ini didapatkan ligan yang memiliki struktur terstabil dengan energi yang paling rendah.



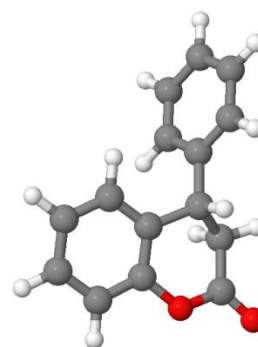
Gambar 3. Ligan Asam Sinamat



Gambar 4. Ligan Metil Sinamat



Gambar 5. Ligan Fenil Sinamat



Gambar 6. Ligan 4-Fenilkroman-2-on

Docking Senyawa Uji Terhadap Reseptor

Proses *docking* selesai maka akan muncul file log.txt yang berisikan data *Root Mean Square Deviation* (RMSD) dan nilai afinitas hasil *docking* sedangkan file output hasil *docking* dengan format file .pdbqt, berisikan data konformasi ligan yang ditambahkan.

Visualisasidan Analisis Data

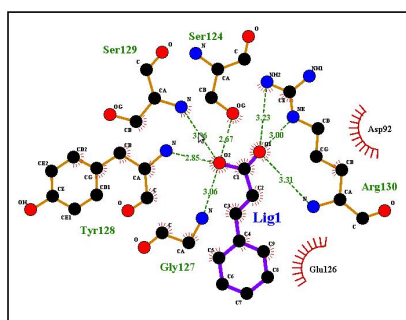
Analisa hasil uji *docking* yang dilakukan meliputi energi *docking*, nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD), seberapa banyak interaksi yang terjadi antara ligan dengan asam amino dari protein reseptor, jarak interaksi dan jenis asam amino yang berinteraksi dengan ligan.

Besarnya nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) menunjukkan keakuratan perhitungan dimana jika nilai RMSD < 2 Å ini menunjukkan bahwa semakin kecil kesalahan dari hasil perhitungan sehingga dikatakan lebih akurat perhitungannya. Sedangkan jika nilai RMSD > 2 Å ini menunjukkan bahwa penyimpangan dari hasil perhitungan lebih besar. Dari hasil *docking* ligan asam sinamat diperoleh interaksi antara ligan terhadap reseptor protein dalam Tabel 1.

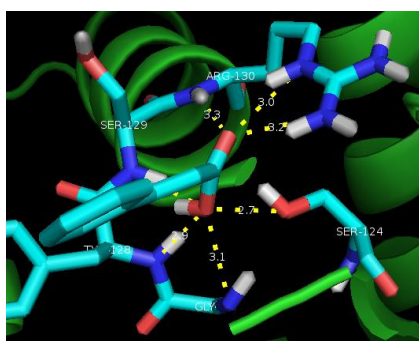
Tabel 1. Interaksi ligan asam sinamat terhadap protein reseptor 1J4X

Ligan	Mode	Energy docking (Kcal/mol)	Root Mean Square Deviation (RMSD)	Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan (Å)
Asam Sinamat	1	-5,7	0,000	HO---HO-Serin 124	2,1
				HO---HN-Glisin 127	2,5
				HO---HN-Tirosin 128	2,0
				HO---HN-Serin 129	2,1
				O---HN-Arginin 130	2,4
				O---HN-Arginin 130	2,1
				O---HN-Arginin 130	2,4
				HO---HO-Serin 124	2,2
	2	-5,6	2,555	HO---HN-Asam Glutamat 126	2,6
				HO---HN-Glisin 127	2,4
				HO---HN-Tirosin 128	2,0
				HO---HN-Serin 129	2,2
				O---HN-Arginin 130	2,4
				O---HN-Arginin 130	2,1
				O---HN-Arginin 130	2,4
				HO---HO-Serin 129	1,9
	3	-5,0	4,461	HO---HN-Asparagin 163	2,6
	4	-4,8	2,819	HO---HN-Arginin 130	2,0
	5	-4,5	4,933	O---HO-Asam Aspartat 92	2,3

Dari hasil uji *docking* molekul asam sinamat terhadap reseptor 1J4X diperoleh nilai RMSD < 5 Å pada mode 1, mode 2, mode 3, mode 4 dan mode 5. Visualisasi 2D dan 3D hasil *docking* sebagai berikut :



(a)



(b)

Gambar 7. Visualisasi hasil *docking* molekul asam sinamat mode 1 2D dengan ligplot (a) dan 3D dengan pymol (b) terhadap protein 1J4X

Pada mode 1 merupakan mode terbaik dari ligan asam sinamat karena diperoleh energi *docking* paling rendah sebesar -5,7 Kkal/mol dengan nilai RMSD paling kecil . Dari enam asam amino yang berinteraksi dengan ligan, arginin 130 dan serin 124 yang berinteraksi pada rantai

sampling dengan ligan. Adanya interaksi ini disebabkan jarak yang masih memungkinkan terjadinya interaksi antara ligan dengan asam amino dari protein.

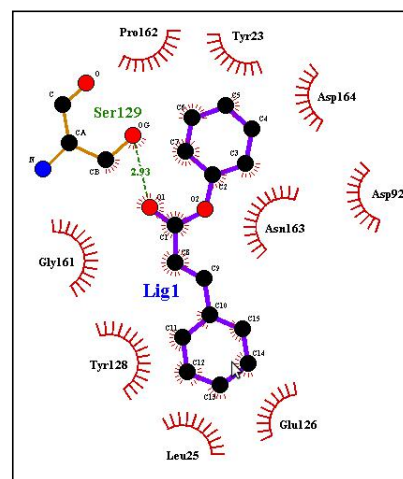
Dari hasil *docking* ligan fenil sinamat diperoleh interaksi antara ligan terhadap reseptor protein dalam Tabel 2.

Tabel 2. Interaksi ligan fenil sinamat terhadap protein reseptor 1J4X

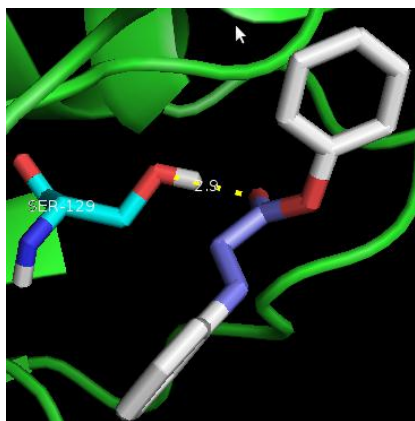
Ligan	Mode	Energy docking (Kcal/mol)	Root Mean Square Deviation (RMSD)	Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan (Å)
Fenil Sinamat	1	-6,0	0,000	O---HO-Serin 129	2,1
	2	-5,7	4,976	-	-
	9	-5,4	4,032	-	-

Dari hasil uji *docking* molekul fenil sinamat terhadap reseptor 1J4x diperoleh nilai RMSD < 5 Å pada mode 1, mode 2 dan mode 9.

Pada mode 1 merupakan mode terbaik dari ligan fenil sinamat karena diperoleh energi *docking* paling rendah sebesar -6,0 Kkal/mol dengan nilai RMSD paling kecil. Interaksi dari rantai samping pada asam amino serin 129 dengan ligan disebabkan jarak yang memungkinkan terjadinya interaksi antara ligan dengan asam amino dari protein. Visualisasi 2D dan 3D hasil *docking* sebagai berikut :



(a)



(b)

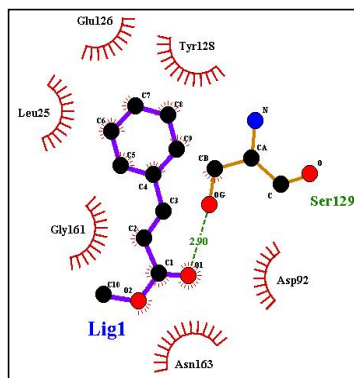
Gambar 8. Visualisasi hasil *docking* molekul metil sinamat mode 1 2D dengan ligplot (a) dan 3D dengan pymol (b) terhadap protein 1J4X

Dari hasil uji *docking* metil sinamat diperoleh interaksi antara ligan terhadap reseptor dalam Tabel 3.

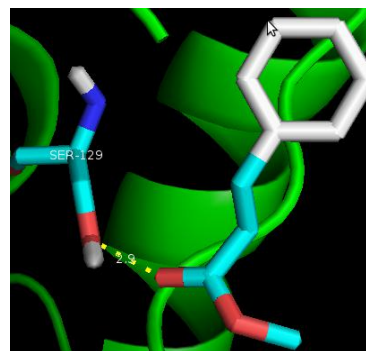
Tabel 3. Interaksi ligan metil sinamat terhadap protein reseptor 1J4X

Ligan	Mode	Energi <i>docking</i> (Kcal/mol)	Root Mean Square Deviation (RMSD)	Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan (Å)
Metil Sinamat	1	-4,7	0,000	O---HO-Serin 129	2,2
	2	-4,5	4,762	O---HO-Tirosin 128	2,6
	3	-4,4	4,254	-	-
	6	-4,0	1,714	-	-

Dari hasil uji *docking* molekul metil sinamat terhadap reseptor 1J4x diperoleh nilai RMSD < 5 Å pada mode 1, mode 2. Mode 3 dan mode 6. Visualisasi 2D dan 3D hasil *docking* sebagai berikut :



(a)



(b)

Gambar 9. Visualisasi hasil *docking* molekul metil sinamat mode 1 2D dengan ligplot (a) dan 3D dengan pymol (b) terhadap protein 1J4X

Pada mode 1 merupakan mode terbaik dari ligan metil sinamat karena diperoleh energi *docking* paling rendah sebesar -4,7 Kkal/mol dengan nilai RMSD paling kecil. Adanya interaksi dari rantai samping pada asam amino serin 129 dengan ligan disebabkan jarak yang memungkinkan terjadinya interaksi antara ligan dengan asam amino dari protein.

Dari hasil *docking* ligan 4-fenilkroman-2-on diperoleh interaksi antara ligan terhadap reseptor protein dalam Tabel 4.

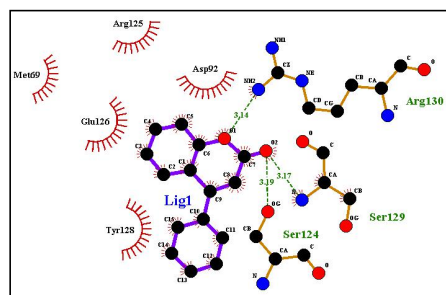
Tabel 4. Interaksi ligan 4-fenilkroman-2on terhadap protein reseptor 1J4X

Ligan	Mode	Energi <i>docking</i> (Kcal/mol)	Root Mean Square Deviation (RMSD)	Ikatan Hidrogen	Jarak Ikatan (Å)
4-Fenilkroman-2-on	1	-7,5	0,000	O---HO-Serin 124	2,4
				O---HN-Serin 129	2,4
				O---HN-Arginin 130	2,2
	4	-5,9	4,369	O---HO-Serin 124	2,1
				O---HN-Asparagin 163	2,6
	5	-5,9	3,232	-	-
	6	5,8	4,954	-	-
	9	-5,4	4,161	-	-

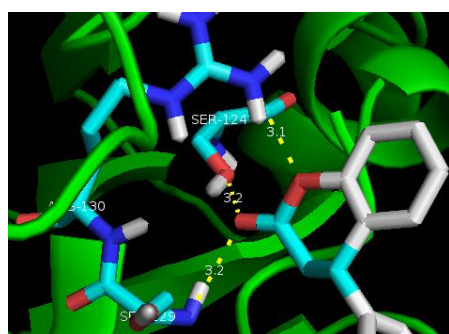
Dari hasil uji *docking* molekul 4-Fenilkroman-2-on terhadap reseptor 1J4x diperoleh nilai RMSD < 5 Å pada mode 1, mode 4. Mode 5 dan mode 6.

Pada mode 1 merupakan mode terbaik dari ligan 4-fenilkroman-2-on karena diperoleh energi *docking* paling rendah sebesar -7,5 Kkal/mol dengan nilai RMSD paling kecil. Asam amino arginin 130 dan serin 124 berinteraksi pada rantai samping dengan ligan tetapi pada asam amino serin 129 adanya interaksi dari ikatan peptida. Hal ini kemungkinan disebabkan jarak yang masih memungkinkan terjadinya interaksi antara ligan

dengan asam amino dari protein. Visualisasi 2D dan 3D hasil *docking* sebagai berikut :



(a)



(b)

Gambar 10. Visualisasi hasil *docking* molekul 4-fenilkroman-2-on mode 1 2D dengan ligplot (a) dan 3D dengan pymol (b) terhadap protein 1J4X

Hasil data juga dapat dijelaskan bahwa pada molekul asam sinamat, fenil sinamat, metil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on terhadap reseptor protein 1J4X, diperoleh hasil penambatan berupa energi *docking* dan nilai RMSD pada masing-masing ligan uji. Semakin kecil RMSD maka semakin baik metode yang dilakukan [6]. Pada penelitian ini memilih mode dengan nilai RMSD paling kecil yaitu mode 1 sebagai mode terbaik pada masing-masing ligan uji.

Energi *docking* merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan antara ligan dengan reseptornya. Semakin stabil interaksi ligan dengan protein terlihat dengan semakin rendahnya energi *docking*. Kestabilan interaksi ini sebanding dengan potensi senyawa dalam memberikan efek antiproliferasi secara virtual [7].

Dari hasil analisa visualisasi secara 2D dengan ligplot dan 3D dengan pymol keempat ligan uji terhadap reseptor 1J4X, terlihat bahwa interaksi ditandai dengan garis putus-putus. Pada Gambar 7. ligan asam sinamat memiliki interaksi yang lebih banyak yaitu 5 jenis asam amino dibandingkan ligan uji asam sinamat, fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on dapat dikatakan

bahwa senyawa asam sinamat memiliki potensi sebagai obat antikanker.

Dengan melihat rendahnya energi *docking* dari keempat ligan uji, molekul 4-fenilkroman-2-on memiliki energi *docking* yang paling rendah yaitu sebesar -7.5 kkal/mol. Semakin rendah energi *docking* yang dihasilkan maka akan semakin stabil interaksi yang terbentuk antara asam amino dari protein reseptor dengan ligan dimana sesuai dengan hukum termodinamika, sehingga kanker menjadi tidak reaktif dan dapat dihambat perkembangannya dalam tubuh manusia.

Tingkat toksisitas metil sinamat dan turunannya pada uji toksisitas dengan metode *brine shrimp lethality test* (BSLT), dari yang terbesar adalah 4-fenilkroman-2-on, metil sinamat, asam sinamat dan fenil sinamat. Sebagai kandidat obat antikanker, adanya tingkat toksisitas yang aktif pada derivat metil sinamat sehingga dapat dianalisis lebih lanjut [3].

Berdasarkan dari hasil komputasi, molekul asam sinamat dinilai lebih berpotensi sebagai senyawa kandidat obat antikanker serviks karena memiliki interaksi berupa ikatan hidrogen yang lebih banyak pada mode 1 dibandingkan senyawa metil sinamat, fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on pada mode yang sama. Dengan melihat interaksi dan jarak ikatan hidrogen yang terbentuk, pada asam sinamat memiliki 8 ikatan hidrogen dan jarak ikatan yang terbentuk lebih dekat dibandingkan molekul 4-fenilkroman-2-on yang memiliki 3 ikatan hidrogen. Energi *docking* yang dihasilkan molekul asam sinamat sebesar -5.7 kkal/mol, tidak lebih rendah dibandingkan molekul 4-fenilkroman-2-on yang memiliki energi *docking* sebesar -7,5 kkal/mol. Akan tetapi senyawa asam sinamat memiliki interaksi yang lebih banyak sehingga dapat dikatakan bahwa dengan semakin banyaknya ikatan hidrogen yang terbentuk antara reseptor dengan molekul inhibitor maka dapat lebih menghambat pertumbuhan dari sel kanker.

KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut :

1. Senyawa asam sinamat berikatan hidrogen paling banyak dengan reseptor dibandingkan senyawa metil sinamat, fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on sehingga asam sinamat dinilai lebih berpotensi sebagai inhibitor sel kanker serviks.
2. Dari mode terbaik setiap ligan uji yang

terlihat pada hasil visualisasi, asam sinamat berikatan hidrogen dengan asam amino serin 124, glisin 127, tirosin 128, serin 129 dan arginin 130; fenil sinamat berikatan hidrogen dengan asam amino serin 129; metil sinamat berikatan hidrogen dengan asam amino serin 129; 4-fenilkroman-2-on berikatan hidrogen dengan asam amino serin 124, serin 129 dan arginin 130.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rasjidi, I. 2009. *Epidemiologi Kanker Serviks Indonesian Journal of Cancer Volume III, Nomor 3, Juli-September 2009*. Tangerang: Universitas Pelita Harapan.
- [2] Lala, Z., Wagey, F., Lohe, M. 2016. *Evaluasi Penanganan Kanker Serviks di RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou periode 1 Januari 2013 – 31 Desember 2014 Jurnal e-clinic (eCl), Volume 4, Nomor 1, Januari-Juni 2016*. Manado: Universitas Sam Ratulangi.
- [3] Ernawati dan Dila. 2013. *Sintesis Fenil sinamat dan 4-Fenilkromanon-2-on dan Uji Sitotoksitas Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa*. Tangerang: Universitas Indonesia
- [4] Saleh, W. 2015. *Studi Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Anti-Tuberkulosis Senyawa Amidasi Etil P-Metoksisinamat Dengan Pendekatan Hansch dan Penambatan Molekuler pada Enzim Inh A*. Skripsi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- [5] Wu, S., Sofie, V., dkk. 2009. *Multidentate Small-Molecule Inhibitors of Vaccinia H1-Related (VHR) Phosphatase Decrease Poliferation of Cervix Cancer Cells*. Journal of Medical Chemistry.
- [6] Lestari, T. 2015. *Studi Interaksi Turunan 1,3-Dibenzoiltiourea sebagai Ribonukleotida Reduktase Inhibitor*. Tasikmalaya: STIKesBakti Tuna Husada.
- [7] Adelina, R. 2013. *Uji Molecular Docking Annomuricin E dan Muricapentocin pada Aktivitas Antipoliferasi*. Jakarta: Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan.